I. Ueber das Schicksal des Cholesterins

im tierischen Organismus.

II. Ueber das Verhalten des Salols

sowie des Distearylsalicylglycerids im Organismus.

(Quantitative Untersuchungen.)

Von

Dr. Vinzenz Humnicki

I. Ueber das Schicksal des Cholesterins
im tierischen Organismus.

II. Ueber das Verhalten des Salols
sowie des Distearylsalicylglycerids im Organismus
(Quantitative Untersuchungen).

Inaugural-Dissertation,

der

mathematisch-naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Universität Freiburg in der Schweiz

zur

Erlangung der Doktorwürde

vorgelegt von

Vinzenz Humnicki

aus Busko (Polen).

ACAD.
LUGD.BAT.
BIBL.

Freiburg (Schweiz)
Buchdruckerei Gebrüder Fragnière.

1898

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545307_0051

Die vorliegenden Untersuchungen wurden im pharmakologischen Institut der Universität Heidelberg ausgeführt.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, des weil. Dr. W. v. Schröder, Prof. der Pharmakologie in Heidelberg und Vorstands des pharmakol. Instituts in Dankbarkeit pietätvoll zu gedenken. Das Interesse, mit welchem er meine Arbeiten verfolgt hatte, sowie sein freundliches Entgegenkommen haben dieselben vielfach gefördert.

Ferner gebührt mein aufrichtiger Dank Herrn Dr. St. Bondzynski, auf dessen Veranlassung ich diese Untersuchungen unternommen habe, für die werthvollen Rathschläge, welche mir seinerseits zu Theil wurden.

I.

Ueber das Schicksal des Cholesterins im tierischen Organismus.

Bondzynski hat in einer kurzen Mitteilung [1]) einen neuen Körper beschrieben, den er Koprosterin nannte. Dieser Körper ist ein steter Bestandteil der menschlichen Fäces und wird in denselben in einer Menge von im Mittel ca. 1 g pro Tag ausgeschieden.

An der Hand der analytischen Daten und der Eigenschaften des Körpers sprach Bondzynski die Vermutung aus, dass das Koprosterin in naher Beziehung zum Cholesterin ($C_{27}H_{46}O$), dem bekannten Hauptbestandteil der Gallensteine, stehe.

Die genauere Feststellung der Zusammensetzung und der daraus sich ergebenden Beziehungen des Koprosterins zum Cholesterin, sowie die Untersuchung über den Ort und die Art seiner Enstehung sind der Gegenstand der vorliegenden Arbeit.

Zur Darstellung des Koprosterins werden frische menschliche Fäces auf dem Wasserbade getrocknet und die fein zerriebene Masse im Soxhlet'schen Extractionsapparat mit Aether ausgezogen.

---

[1]) Ber. d. D. chem. Ges. 1896, S. 476.

Der Aetherauszug, welcher hauptsächlich Fett, freie Fettsäuren und Koprosterin enthält, wird nach der Methode von Kossel und K. Obermüller [1]) mit Natriumalkoholat verseift. Die Verseifung findet sofort statt unter Ausscheidung der in Aether unlöslichen Natronseifen. Nach einiger Zeit wird die alkoholisch-ätherische Lösung von den Seifen filtrirt und der Aether auf einem warmen Wasserbade verdunstet. Die Seifen aus dem Fett der Fäces lassen sich aber auf diese Weise bei weitem nicht quantitativ ausfällen, wie das von den genannten Autoren für das Fett der Organe beobachtet und zur quantitativen Trennung des Cholesterins empfohlen wurde. Ein nicht unbedeutender Teil der Seifen geht in das Alkohol-Aetherfiltrat über. Nach dem Verdunsten des Aethers wurde deshalb die Lösung unter Zusatz von Wasser zur vollständigen Entfernung des Alkohols auf dem Wasserbade erwärmt, dann mit Wasser versetzt und mit Aether ausgeschüttelt. Dieser Aetherextract ist nun frei von Seifen und enthält das Koprosterin.

Der Vorteil dieser Methode vor dem Verseifen mit alkoholischen Laugen besteht darin, dass ein grosser Teil der Seifen durch Filtriren entfernt wird, was die nachfolgende Extraction mit Aether erleichtert, während beim Verseifen mit Laugen die resultirende seifenreiche Lösung mit Aether sich kaum ausziehen lässt, indem sie beim Ausschütteln mit demselben eine Emulsion bildet.

Nach dem Verdunsten des Aethers hinterbleibt ein Oel, welches aber bald zu einem aus langen Nadeln

[1]) Zeitschr. für physiol. Chem. Bd. 14, S. 599.

bestehenden Krystallkuchen erstarrt. Es wurde aus Alkohol (85%–90%) umkrystallisirt.

Es ist zu bemerken, dass die erste Mutterlauge von den Koprosterinkrystallen regelmässig noch eine ölige Flüssigkeit ausschied, welche nur eine schwache Neigung zur Krystallisation zeigte und sich erst nach langem Stehen in eine nicht ganz feste Masse umwandelte. Ob dieselbe auch aus Koprosterin bestand, wurde nicht weiter untersucht.

Das Koprosterin ist in Wasser und Alkalien unlöslich. Absoluter Alkohol löst es leicht in der Kälte. Es ist sehr leicht löslich in Aether, Chloroform, Schwefelkohlenstoff, Benzol und Petroleumäther. Aus Alkohol krystallisirt es, wie aus anderen Lösungsmitteln, in langen, feinen Nadeln. Zwei bis drei mal umkrystallisirt, zeigt es den constanten Schmelzpunkt 95°–96°. Es ist optisch activ, und zwar dreht es die Polarisationsebene nach rechts.

> Bei einer Concentration von 1,5809 g in 12 cbcm Aether und einer 20 cm langen Polarisationsröhre wurde eine Ablenkung von 6,4° beobachtet.

Seine specifische Drehung $[\alpha]_D$ ist $= + 24°$.

Das Koprosterin giebt die bekannten Cholesterinreactionen, jedoch mit geringen Abweichungen.

So giebt eine Chloroformlösung des Koprosterins, mit dem gleichen Volumen conc. Schwefelsäure versetzt, anfangs nur eine gelbliche Färbung, welche erst allmälig und nach längerem Stehen orangerot und dunkelrot wird, während das Cholesterin unter denselben Umständen sofort eine blutrote Färbung giebt. Die Reaction von L. Liebermann fällt auch beim Koprosterin anders als beim Cholesterin aus; während eine

Chloroformlösung des Cholesterins bei Zusatz von Essigsäureanhydrid und Schwefelsäure eine ganze Skala von allmälig aufeinander folgenden Farbenveränderungen von Rosenrot über Violett, Blau bis zum Grün erscheinen lässt, giebt das Koprosterin bei der gleichen Behandlung sofort eine Blaufärbung, welcher bald eine Grünfärbung nachfolgt. Schliesslich giebt das Koprosterin nicht die charakteristischen Farbenerscheinungen, welche beim Schmelzen einiger Säureester des Cholesterins, besonders am Propionylcholesterin[1]) beobachtet wurden.

Vom Cholesterin unterscheidet sich also das Koprosterin durch seine Löslichkeit in kaltem absoluten Alkohol, durch die Art des Krystallisirens und das erwähnte Verhalten bei den Reactionen, vor allem aber durch seinen Schmelzpunkt, die Richtung seines optischen Drehungsvermögens und, wie aus dem Folgenden hervorgeht, durch seine Zusammensetzung.

Die Zusammensetzung des Cholesterins wurde in den letzten Jahren von Reinitzer[2]), K. Obermüller[3]), sowie von Mauthner und Suida[4]) festgestellt und als der Ausdruck derselben übereinstimmend die zuerst von Wislicenus und Moldenhauer[5]) angegebene, später aber verlassene Formel $C_{27}H_{46}O$ bestätigt. Wir können daher diese Formel bei unseren Betrachtungen als sicher ansehen, umsomehr als die Analysen einiger von uns dargestellten Derivate

[1]) Z. für physiol. Chem. Bd. 15, S. 37.
[2]) Monatsh. f. Ch. Jahrg. 1888.
[3]) L. c.
[4]) Monatsh. f. Ch. Jahrg. 1894.
[5]) Ann. d. Chem. Pharm. 146, 177.

des Cholesterins, wie das aus der weiteren Beschreibung der Versuche sich ergeben wird, mit der genannten Formel gut übereinstimmen. Ein lufttrockenes Koprosterin verliert, bei 110°C getrocknet, noch 1,5% an Gewicht. Geringe Gewichtsverluste bei 100°C, die auf Feuchtigkeit zu beziehen sind, wurden noch an einer zuvor 3 Wochen über Schwefelsäure getrockneten Substanz beobachtet.

Die Elementaranalyse der bei 100°C getrockneten Präparate ergab:

	1.		2.	Berechnet: für $C_{25}H_{44}O$	für $C_{27}H_{48}O$	für das Cholesterin $C_{27}H_{46}O$
C	83,41	83,34	83,56	83,33	83,50	83,93
H	12,24	12,24	12,21	12,22	12,37	11,91

Aus den analytischen Daten geht mit besonderer Schärfe hervor, dass das Koprosterin wasserstoffreicher ist als das Cholesterin. Dies veranlasste uns, das Verhalten desselben gegen Brom zu untersuchen. In der That, während die Addition von Brom zu Cholesterin so glatt verläuft, dass eine Lösung von Cholesterin sich mit einer Lösung von Brom [wie das von Obermüller[1]) beobachtet wurde, und was wir nur bestätigen können] titriren lässt, addirt das Koprosterin kein Brom. Ganz analog verhalten sich auch beide Körper gegen Jod. Mit einer nach Hübl bereiteten Jodlösung lässt sich nach Lewkowitsch[2]) das Cholesterin ebenfalls genau titriren. In einem von uns angestellten Versuche fanden wir bei der Titration mit

[1]) Z. für physiol. Chem. Bd. 15, S. 150.
[2]) Ber. d. D. chem. Ges. 1892, S. 65.

der Jodquecksilberchlorid-Lösung dass von 1,0912 g Cholesterin 0,740 g Jod gebunden wurden, was 1,128 g Cholesterin entspricht, während in einem unter den gleichen Bedingungen mit Koprosterin angestellten Versuche die ganze Menge des hinzugefügten Jods ungebunden blieb und genau zurücktitrirt wurde, wie auch das Koprosterin unverändert zurückgewonnen werden konnte.

Bei der Umwandlung von Cholesterin in Koprosterin hat offenbar an der Stelle der Doppelbindung im Cholesterinmolekül eine Addition von zwei Wasserstoffatomen stattgefunden. Ob nicht noch andere Veränderungen resp. Abspaltungen am Cholesterinmolekül stattgefunden haben, liess sich aus den Analysen des Koprosterins, bei der nahen procentischen Zusammensetzung einiger benachbarten Homologen, nicht mit Bestimmtheit erkennen. Wir können aber der Darstellung unserer Versuche vorauseilen und hier mitteilen, dass aus den von uns ausgeführten vielen Analysen einiger Säureester des Koprosterins, besonders aber aus den Analysen der Ester einiger bromsubstituirten Säuren, des Monobromacetylkoprosterins und des Phenyldibrompropionylkoprosterins, als Ausdruck der Zusammensetzung des Koprosterins sich mit Sicherheit die Formel $C_{27}H_{48}O$, also die eines Dihydrocholesterins ergab.

Acetylkoprosterin.

Dieser Ester entsteht beim Erhitzen gleicher Gewichtsmengen von Koprosterin und Essigsäureanhydrid auf dem Wasserbade. Er ist in allen gebräuch-

lichen Lösungsmitteln leicht löslich und krystallisirt in Nadeln. Nach dem Umkrystallisiren aus Alkohol schmilzt er constant bei 85°C.

Die Elementaranalysen ergaben :

	Gefunden :		Berechnet für $C_{27}H_{47}O.C_2H_3O$:
% C	81,12	80,83	80,93
% H	11,86	11,64	11,62

Propionylkoprosterin.

Das Propionylkoprosterin wurde in der gleichen Weise wie das Acetylkoprosterin dargestellt. Sein Verhalten gegenüber Lösungsmitteln ist dem des Acetylkoprosterin ähnlich. Es krystallisirt in Nadeln und schmilzt bei 92° C. Da dieser Schmelzpunkt dem Schmelzpunkt des Koprosterins nahe liegt, so haben wir durch Verseifen dieses Esters und Isolierung der gebildeten Propionsäure uns überzeugt, dass wir nicht das unveränderte Koprosterin, sondern seinen Propionsäureester vor uns hatten. Bei der Analyse dieser Verbindung wurden folgende Zahlen erhalten :

	Gefunden :	Berechnet für $C_{27}H_{47}O.OC_3H_5$:
% C	81,29	81,08
% H	11,87	11,71

Von dem ebenfalls nahe schmelzenden Propionylcholesterin unterscheidet sich das Propionylkoprosterin sehr scharf, indem es das erwähnte, am Propionylcholesterin beobachtete [1], beim Schmelzen und beim Erstarren der Krystalle auftretende Farbenspiel nicht giebt.

[1]) Obermüller l. c.

Benzoylkoprosterin.

Das Benzoylkoprosterin wird wie das Benzoylcholesterin durch Erhitzen des Koprosterins mit Benzoylchlorid auf 140° dargestellt. Es ist in Aether leicht, in Alkohol fast gar nicht löslich. Aus Aether-Alkohol krystallisirt es in rechtwinkligen Tafeln, welche bei 114°–115° schmelzen. Die Elementaranalysen ergaben:

	Gefunden:		Berechnet für $C_{27}H_{47}O.OC_7H_5$:
% C	82,94	82,70	82,92
% H	10,40	10,20	10,57

Cinnamylkoprosterin.

Diese Verbindung wird erhalten durch Zusammenschmelzen des Koprosterins mit Cinnamylchlorid auf 130°. Beim Erkalten erstarrt die Schmelze zu einer harten, krystallinischen Masse, welche in Aether löslich ist. Bei Zusatz von Alkohol zu der ätherischen Lösung fällt der Ester in rechtwinkligen Säulen als ein Krystallbrei aus.

Er schmilzt constant bei 169° C. Das Ergebniss der Elementaranalysen war:

	Gefunden		Berechnet für $C_{27}H_{47}O.OC_9H_7$:
% C	83,29	83,41	83,39
% B	10,63	10,58	10,42

Bei der Darstellung des Zimmtsäureesters des Koprosterins wurden wir von der Absicht geleitet, an den eingeführten Rest einer ungesättigten Säure Bromatome zu binden und in dieser Weise zu einem bromsubstituirten Derivate des Koprosterins zu gelangen. In der That addirt das Cinnamylkoprosterin leicht Brom.

Cinnamylkoprosterinbromid.

Zu einer Lösung von Cinnamylkoprosterin in Schwefelkohlenstoff wurde eine Lösung von Brom in Schwefelkohlenstoff so lange hinzugefügt, als noch Entfärbung stattfand. Der Ueberschuss von freiem Brom wurde nun durch Alkoholzusatz entfernt und die alkoholhaltige Lösung der freien Verdunstung überlassen. Beim Abdunsten des Schwefelkohlenstoffs fiel ein in Alkohol schwer lösliches Oel aus, welches bald krystallinisch erstarrte. Die Krystalle sind äusserst leicht löslich in Chloroform und Schwefelkohlenstoff, schwieriger in Aether und ziemlich schwer in Alkohol. Nach einmaligem Umkrystallisiren aus Chloroform-Alkohol sind sie rein und zeigen den constanten Schmelzpunkt 165°–166° C. Bei den Elementaranalysen wurden folgende Prozentzahlen erhalten:

	Gefunden:			Berechnet für $C_{27}H_{41}O.OC_9H_7Br_2$:	Berechnet für $C_{27}H_{47}O.OC_9H_7Br_2$:
% C	63,83	63,97	— —	63,15	63,71
% H	8,09	8,13	— —	7,38	7,96
% Br	—	—	23,76 23,60	24,61	23,59

Die Differenzen in der procentischen Zusammensetzung zwischen zwei nahen homologen Formeln für das Cinnamylkoprosterinbromid sind, wie aus dieser Zusammenstellung der Zahlen ersichtlich, so gross, dass die Auswahl zwischen den Formeln nicht mehr zweifelhaft bleibt. Wir müssen uns für die zweite entscheiden und folglich $C_{27}H_{48}O$ als die richtige Bruttoformel des Koprosterins bezeichnen.

Was die Constitution des Cinnamylkoprosterinbromids betrifft, so unterliegt es wohl keinem Zweifel,

dass die Addition von Brom nicht an dem Koprosterinmolekül, sondern an dem Zimmtsäurerest stattgefunden hat, und dass diese Verbindung ein Koprosterinester der Phenyldibrompropionsäure ist: $C_{27}H_{47}O.CO.CHBr.CHBr.C_6H_5$. Es folgt das namentlich aus dem Verhalten des Cinnamylcholesterins dem Brom gegenüber. Der Zimmtsäure-Cholesterinester ist, wie zu erwarten war, im Stande, vier Bromatome zu addiren, entsprechend den ungesättigten Gruppen des Cholesteryls und des Zimmtsäureesters. Da das Cinnamylcholesterin noch nicht beschrieben wurde, so lassen wir eine kurze Darstellung seiner Eigenschaften folgen.

Cinnamylcholesterin.

Der Zimmtsäureester des Cholesterins wird genau in der gleichen Weise wie das Cinnamylkoprosterin erhalten. Er ist ebenfalls leicht löslich in Aether u d fast unlöslich in Alkohol und krystallisirt in charakteristischen Tafeln, welche bei 149° schmelzen, wobei eine prachtvolle, fluorescirende Färbung erscheint, ein Verhalten, welches dem am Propionyl-und Benzoylcholesterin beobachteten ähnlich ist. Während die meisten Ester des Cholesterins diese schöne Farbenerscheinung zeigen, giebt dieselbe keiner der von uns dargestellten Ester des Koprosterins.

Die Elementaranalyse der beschriebenen Verbindung ergab:

Gefunden:	Berechnet für $C_{27}H_{43}O.OC_9H_7$
% C 83,52	83,72
% H 9,53	10,07

Cinnamylcholesterintetrabromid.

Die Anlagerung von Brom an den Zimmtsäureester des Cholesterins wird in der gleichen Weise wie beim Cinnamylkoprosterin ausgeführt; nur braucht das Cinnamylcholesterin mehr Brom bis zum Erscheinen eines Bromüberschusses als die entsprechende Verbindung des Koprosterins. Das nach dem Verdunsten des Schwefelkohlenstoffs ausgefallene schwere, in Alkohol schwer lösliche Oel erstarrt zuweilen erst nach 24 Stunden zu einer krystallinischen Masse. Die Krystalle sind in Alkohol schwer, leicht dagegen in anderen Lösungsmitteln löslich. Sie werden am zweckmässigsten durch Krystallisiren aus Essigester gereinigt. Die Verbindung muss aber etwa drei Mal umkrystallisirt werden, bis ein constanter Schmelzpunkt erreicht wird. Sie schmilzt dann bei 139° C.

Die Bestimmung des Bromgehaltes ergab:

Gefunden:	Berechnet für $C_{27}H_{45}O.OC_9H_7Br_4$:
38,28 % Br.	38,27 % Br.

Die vier Bromatome im Cinnamylcholesterinbromid verteilen sich ohne Zweifel auf das Cholesterinmolekül und den Zimmtsäurerest, so dass der genannten Verbindung die Formel $C_{27}H_{45}Br_2O.CO.CHBr.CHBr.C_6H_5$ zukommt.

Eine weitere Bestätigung der schon ziemlich sichergestellten Zusammensetzung des Koprosterins ergab sich aus der Analyse eines andern bromsubstituirten Derivates, des Bromacetylkoprosterins.

Bromacetylkoprosterin.

Die Verbindung wurde durch die Einwirkung des Bromacetylbromids auf Koprosterin erhalten. Das Bromacetylbromid wurde zu diesem Zwecke von uns durch Bromieren von Acetylbromid nach den Angaben von Gal[1]) bereitet. Es ist eine rauchende, an der Luft rasch sich zu Bromessigsäure zersetzende, zu Thränen reizende Flüssigkeit, welche nach mehrmaligem Destilliren constant bei 147° (149° nach Gal) siedet.

Zur Darstellung des Esters wurden 2 g Koprosterin mit 1,2 ccm Bromacetylbromid zusammengebracht; schon bei einer Temperatur von etwa 60° C. findet eine lebhafte Reaction statt. Nach Verlauf derselben wurde das Reactionsproduct in Aether gelöst, die Aetherlösung mit einer verdünnten Sodalösung ausgeschüttelt und verdunsten gelassen. Die erhaltenen Krystalle wurden durch Umkrystallisiren aus Alkohol gereinigt. Sie sind leicht in Aether, noch leichter in Chloroform löslich, in kaltem Alkohol sehr schwer löslich. Ihr Schmelzpunkt liegt bei 118° C. Die Elementaranalysen dieser Verbindung ergaben:

	Gefunden:				Berechnet für $C_{25}H_{43}O.CO.CH_2Br$:	Berechnet für $C_{27}H_{47}O.CO.CH_2Br$:
% C	68,54	68,55	—	—	67,35	68,36
% H	9,78	9,72	—	—	9,35	9,62
% Br	—	—	15,62	15,59	16,63	15,70

Aus den Analysen aller von uns untersuchten Derivate des Koprosterins hat sich also übereinstimmend die Formel $C_{27}H_{48}O$ d. h. die eines Dihydrocholesterins ergeben.

---

[1]) Ann. d. Chem. u. Pharm. 129,54.

Mit der Addition von zwei Wasserstoffatomen an das Cholesterin hat sich gleichzeitig am Cholesterin eine andere Umwandlung vollzogen, nämlich die Veränderung seiner optischen Eigenschaften. Ein rechtsdrehendes Cholesterin, das Isocholesterin, wurde von E. Schulze im Fett der Schafwolle neben dem linksdrehenden Gallencholesterin gefunden. Vielleicht ist das Isocholesterin dort aus seinem optischen Isomeren entstanden und möglicherweise ist eine ähnliche Umwandlung des Cholesterins der Anlagerung von Wasserstoffatomen bei der Bildung von Koprosterin vorangegangen.

Dieses einfache Resultat der Untersuchung, dass beim Uebergang des Cholesterins in das Koprosterin ein Reductionsvorgang stattfindet, bringt uns auch nahe der Entscheidung der Frage über den Ort, an dem diese Umwandlung stattfindet.

Als wir bald nach dem Auffinden des Koprosterins durch Bondzynski die menschliche Galle sowie das aus den Gallensteinen gewonnene Cholesterin auf Koprosterin, und zwar mit negativem Erfolge, untersucht hatten, als wir ferner bei der Durchmusterung von chemischen Analysen der einzelnen Organ-Gewebe und pathologischen Flüssigkeiten neben den Angaben über den Befund des Cholesterins nirgends eine Andeutung über das Vorkommen eines dem Koprosterin ähnlichen Körpers fanden, erschien es uns wahrscheinlich, dass diese Umwandlung im Darm stattfindet. In dieser Annahme wurden wir durch das Resultat der chemischen Untersuchung bestärkt. Sie wurde aber zur Gewissheit, als es uns gelungen war, nach der Einnahme von Cholesterin dasselbe in den Fäces in Koprosterin umgewandelt aufzufinden.

Aus der folgenden Zusammenstellung ist auch die Anordnungsweise dieser Versuche ersichtlich. (Siehe Tab. auf folg. Seite).

Die Versuchsperson war ein gesunder Mann von 24 Jahren mit regelmässigem Stuhl. Das Cholesterin wurde in Butterfett gelöst eingenommen.

Die Bestimmung des Koprosterins resp. Koprosterins + Cholesterin geschah nach der Methode, welche zur Darstellung des Koprosterins benutzt und oben beschrieben wurde. Das früher Gesagte ist hier nur durch die Bemerkung zu ergänzen, dass zur vollkommenen Entfernung der etwa noch übergegangen Seifen der Aetherauszug einigemal mit verdünnter Lauge und mit Wasser ausgeschüttelt wurde. Nach dem Verdunsten des Aethers in gewogenen Kölbchen wurde der Rückstand bei 70°—80° C, bis zur Gewichtsconstanz getrocknet.

Dass die nach der Einnahme von Cholesterin der eingenommenen Menge entsprechende Gewichtszunahme der Extractrückstände in beiden Versuchen nicht etwa einen Uebergang des unveränderten Cholesterins in die Fäces bedeutet, hat die Untersuchung dieser Extracte bewiesen, indem im Versuche *A* von dem eingeführten Cholesterin 0,5326 gr., also nur 10,5%, im Versuche *B* aber nur 0,0685 gr., also 3,3%, wiedergefunden worden, während der weitaus grössere Teil in Koprosterin umgewandelt erschien. Wie dieser Nachweis geführt wurde, soll hier noch kurz besprochen werden.

Das Cholesterin wird zur Auffindung neben dem Koprosterin und zur Trennung von demselben in das Cholesterinbromid übergeführt. Da diese Umwandlung mit den berechneten Verhältnissen übereinstimmend verläuft, während das Koprosterin Brom nicht addirt,

Datum		Dauer der Perioden	Gewicht der Koprosterin-extracte	Zunahme gegenüber dem Gehalt der Normalperiode	Cholesterin darin	Berechnet aus Cholesterin-bromid
27. Juni 28. » 29. » 30. » 1. Juli	Normalperiode v. der Einnahme	5 Tage	4,300 g			
	Vom 1. Juli bis zum 5. (incl.) wurde 2 mal täglich in Portionen von 0,5 g zusammen 5,0324 g Cholesterin eingenommen.					
			Versuch a.			
2. Juli 3. » 4. » 5. » 6. » 7. »	Versuchsperiode 1	5 Tage	5,8535 g	1,5535 g		
8. » 9. » 10. »	Versuchsperiode 2	5 Tage	7,3694 »	3,0694 »		
				S^a 4,6229 g	0,5326 g	0,7535 g
11. » 12. » 13. »	Zwischenperiode	2 Tage	1,4071 »			
	Vom 13. Juli an wurde 2 mal täglich in Portionen von 0,5 g zusammen 2,0325 g Cholesterin eingenommen.					
			Versuch b.			
14. Juli 15. » 16. » 17. » 18. »	Versuchsperiode	5 Tage	6,2812 g	1,9812 g	0,0685 g	0,0970 g

so war nur erforderlich, eine Methode zur Trennung des Cholesterinbromids von Koprosterin zu finden. Diese wurde nun gegründet auf die vollkommene Unlöslichkeit des Cholesterinbromids in Petroleumäther, worin das Koprosterin leicht löslich ist. Das mit Hülfe dieser Trennungsmethode auch aus einem Koprosterinextracte der Fäces das Cholesterin sich annähernd quantitativ gewinnen lässt, davon haben wir uns überzeugt, indem wir zu einem aus 3,025 g Koprosterin bestehenden Extracte der normalen Fäces 1,1739 g Cholesterin hinzusetzten und darauf 1,2271 g Cholesterin in der Form seines Bromids (1,7360 g Cholesterinbromid) wiederfanden.

Wenn also das Cholesterin im Darm in das Koprosterin übergeht und diese Reduction unzweifelhaft der Wirkung des Fäulnisprozesses zugeschrieben werden muss, so ergab doch ein vorläufiger Versuch, das Cholesterin in vitro in Koprosterin durch Fäulnis überzuführen, ein negatives Resultat. Es ist auch uns, wie früheren Forschern, nicht gelungen, durch chemische Reductionsmittel eine Anlagerung von zwei Wasserstoffatomen an das Cholesterin herbeizuführen. Als das Cholesterinbromid und das Cholesterinjodid in alkoholischer Lösung mit Zink oder Zinn und Salzsäure behandelt wurden, wurde aus diesen Verbindungen das Cholesterin zurückgebildet.

Dass das Eintreten und die Intensität des Reductionsprozesses, welcher die genannte Umwandlung zu Stande bringt, (von der Richtung oder vielmehr) vom Nährboden des Fäulnisprozesses sehr abhängig ist, geht auch aus der Untersuchung der Fäces anderen Ursprungs hervor.

Wir haben die Fäces von Hunden auf Cholesterin, resp. ein Umwandlungsproduct desselben untersucht. Von fremder Verunreinigung freie, weisse Krystalle eines cholesterinartigen Körpers sind aus den Hundefäces leicht darzustellen.

Bei der mikroskopischen Untersuchung der aus Alkohol ausgefallenen Krystalle wurden neben dem charakteristischen rhombischen Tafeln des Cholesterins auch Nadeln beobachtet. Da ausserdem der Schmelzpunkt derselben trotz mehrmaligem Umkrystallisiren nicht auf 145° zu bringen war und die Schwankungen des Schmelzpunktes zwischen 110° und 130° C sich bewegten, so wurde versucht, in der beschriebenen Weise das etwa vorhandene Cholesterin in das Cholesterinbromid überzuführen und die obengenannte Trennungsmethode anzuwenden. Das Resultat dieser Untersuchung war, dass die Hundefäces unverändertes Cholesterin der Galle enthalten. Das erhaltene Bromid war Cholesterinbromid, was sowohl aus der Vergleichung der Schmelzpunkte, wie aus einer Brombestimmung sich ergab. Die Krystalle schmolzen bei 109° C., welchen Schmelzpunkt auch, wie wir uns überzeugt haben, die Krystalle des Cholesterinbromids aufweisen. Bei der Brombestimmung wurde

Gefunden :	Berechnet für $C_{27}H_{46}Br_2O$:
29,26% Br.	29,30% Br.

Aus dem Petroleumäther-Auszug des Cholesterinbromids wurde eine sehr geringe Menge eines schwer krystallisirbaren Körpers erhalten, welcher nicht näher untersucht werden konnte.

Das Cholesterin der Galle geht also im Hundeorganismus unverändert in die Fäces über. Ganz anders ist das Schicksal desselben im Darm eines Pflanzenfressers.

Bei der Untersuchung der Fäces von Pferden haben wir einen neuen cholesterinartigen Körper gefunden, welcher sowohl von Cholesterin wie von Koprosterin verschieden ist. Die Verbindung ist in Wasser und Alkalien unlöslich, in Alkohol leicht löslich, obgleich schwieriger als das Koprosterin. In anderen, das Cholesterin lösenden Mitteln ist dieselbe sehr leicht löslich. Eine heisse, concentrirte, alkoholische Lösung der Verbindung gesteht beim Abkühlen zu einer Gallerte, welche unter dem Mikroskop als aus kurzen Nädelchen bestehend sich erweist, die regelmässig zu sternförmigen Gruppen vereinigt sind. Aus Alkohol umkrystallisirt, schmilzt die Substanz constant bei 74°—75° C. Die Lösung in Chloroform giebt die charakteristische Farbenreaction beim Zusatz von Essigsäureanhydrid und Schwefelsäure, und zwar tritt zuerst eine intensive Violettfärbung ein, welche bald einer Grünfärbung Platz macht. Der Körper, der Hippokoprosterin genannt werden mag, zeigt in Aetherlösung eine schwache Rechtsdrehung und addirt kein Brom.

Aus diesem Verhalten sowie aus der Analyse ergiebt sich mit Sicherheit, dass die Verbindung auch ein Produkt einer Wasserstoffaddition ist, und dass die Reduction des Cholesterins im Darm des Pferdes noch weiter fortgeschritten ist, als es bei der Entstehung des Koprosterins der Fall war. Das Resultat der einzigen Elementaranalyse, die wir ausführen konnten, teilen wir hier mit, mit der Bemerkung, dass dasselbe einer Bestätigung bedarf.

	Gefunden	Berechnet für $C_{27}H_{54}O$:	Berechnet für $C_{27}H_{56}O$:
% C	82,25	82,23	81,81
% H	14,04	13,70	14,14

Es hat also wohl eine Anlagerung von mehreren Wasserstoffatomen stattgefunden. Die Formeln, die sich aus den erhaltenen Prozentzahlen ableiten lassen, stellen aber zugleich einen so bemerkenswerten Beitrag zur Chemie des Cholesterins dar, dass es von Interesse ist, den Körper genau zu untersuchen. Leider ist die Darstellung des Hippokoprosterins so zeitraubend — 2 kilo getrockneter Fäces gaben nur 1 g desselben — dass diese Untersuchung vorläufig aufgegeben werden musste.

Analytische Belege.

Koprosterin.

1. 0,3242 g. Subst. 0,9908 g. CO_2, 0,3595 g. H_2O, 83,34% C, 12,24% H.
2. 0,2954 g. » 0,9035 g CO_2, 0,3255 g. H_2O, 83,41% C, 12,24% H.
3. 0,2684 g. » 0,8224 g. CO_2, 0,2968 g. H_2O, 83,56% C, 12,21% H.

Acetylkoprosterin.

1. 0,2935 g. Subst. 0,8730 g. CO_2, 0,3132 g. H_2O, 81,12% C, 11,86% H.
2. 0,3377 g. » 1,0009 g. CO_2, 0,3539 g. H_2O, 80,83% C, 11,64% H.

Propionylkoprosterin.

0,3206 g. Subst. 0,9556 g. CO_2, 0,3425 g. H_2O, 81,29% C, 11,87% H.

Benzoylkoprosterin.

1. 0,2719 g. Subst. 0,8361 g. CO_2, 0,2575 g. H_2O, 82,94% C, 10,40% H.
2. 0,3028 g. » 0,9183 g. CO_2, 0,2782 g. H_2O, 82,70% C, 10,20% H.

Cinnamylkoprosterin.

1. 0,3387 g. Subst. 1,0344 g. CO_2, 0,3243 g. H_2O, 83,29% C, 10,63% H.
2. 0,3185 g. » 0,9741 g. CO_2, 0,3035 g. H_2O, 83,41% C, 10,58% H.

Cinnamylkoprosterinbromid.

1. 0,3128 g. Subst. 0,7321 g. CO_2, 0,2280 g. H_2O, 63,83% C, 8,09% H.
2. 0,3257 g. » 0,7640 g. CO_2, 0,2386 g. H_2O, 63,97% C, 8,13% H.

3. 0,3515 gr. Subst. 0,1963 gr. AgBr., 23,76% Br.
4. 0,3470 gr. » 0,1925 gr. AgBr., 23,60% »

Cinnamylcholesterin.

0,2894 g. Subst. 0,8856 g. CO_2, 0,2587 g. H_2O, 83,52% C, 9,93% H.

Cinnamylcholesterintetrabromid.

0,3316 gr. Subst. 0,2984 gr. AgBr, 38,28% Br.

Cholesterinbromid aus dem Cholesterin der Hundefäces.

0,1428 gr. Subst. 0,0982 gr. AgBr, 29,26% Br.

Hippokoprosterin.

0,2367 g. Subst. 0,7139 g. CO_2, 0,3005 g. H_2O, 82,25% C, 14,04% H.

Heidelberg, Pharmacol. Institut des weil. Prof. Dr. W. v. Schrœder, Ende August 1896.

II.

Ueber des Verhalten des Salols sowie des Distearylsalicylglycerids im Organismus

(Quantitative Untersuchungen).

Bondzynski[1]) hat im Verhalten einiger nahe verwandter Ester der Salicylsäure im tierischen Organismus folgende Unterschiede beobachtet. Von der eingenommenen Menge wurden bei Aethylsalicylat 91,3%, bei Aethylensalicylat 46,7% und bei Trisalicylin nur 8,7% resorbirt. Diese Unterschiede haben unsere Aufmerksamkeit der Frage der Resorption derartiger Salicylsäurederivate zugewendet und Versuche über die Schnelligkeit des Resorptionsprozesses veranlasst, die an dem Tempo der Ausscheidung von Salicylsäure im Harn studiert werden sollte. Von den Salicylsäure-Verbindungen haben wir den Salicylsäurephenyläther und das Distearylsalicylglycerid gewählt. Die vielfache Anwendung des Salols in der Therapie hatte zahlreiche klinische Beobachtungen und Erfahrungen veranlasst. Die physiologisch-chemischen Versuche sollten neben den klinischen Beobachtungen zur besserer Beleuchtung der uns interessierenden Frage beitragen.

---

[1]) Arch. f. exp. Path. u. Pharm. Bd. 38, S. 88.

Das Verhalten des Salols im Organismus sowie ausserhalb desselben gegenüber verschiedenen tierischen Geweben und Säften wurde vielfach zum Gegenstand von Untersuchungen gemacht. In erster Linie sind hier die Versuche von M. Nencki[1]) und H. Sahli[2]), also derjenigen Forscher, welche das Salol in die Therapie eingeführt haben, zu nennen. Aus den Versuchen von Sahli geht hervor, dass Salol durch den Speichel, durch den Magensaft, ferner durch Fäulniss-Bacterien und sogar durch manche tote organische Substanzen (Nährgelatine) in Salicylsäure und Phenol zerlegt wird. Sievers und Ewald[3]) haben beobachtet dass Salol im Magen nicht gespalten wird. Dagegen haben Nencki sowie Sievers und Ewald festgestellt, dass Salol durch Digeriren bei Bruttemperatur mit Sodalösung zerlegt wird. Von Nencki wurde ferner erwiesen, dass die Gewebe eine spaltende Wirkung auf das Salol ausüben können und zwar in besonderem Grade die Pancreasdrüse mit ihrem Saft sowie die Darmmucosa, ferner dass diese Spaltung auf die Wirkung der Gewebe selbst und nicht auf ihre alkalische Beschaffenheit zurückzufüren ist, dass aber die alkalische Reaction für diese spaltende Wirkung der Gewebe ausserordentlich förderlich ist. Bei der Digestion mit Pancreas bei Bruttemperatur und alkalischer Reaction wurden 25% der zugesetzten Salolmenge gespalten gefunden. Diese Versuche wurden von M. Lesnik[4]), einem Schüler Nencki's, bestätigt.

[1]) Therapeut. Mon. 1887 November.
[2]) Ther. Mon. 1887 September.
[3]) Therap. Mon. 1887.
[4]) Arch. f. exp. Path. u. Pharm. Bd. 24, S. 167.

Rodzajewski [1]) ist auf Grund von Tierexperimenten sowie von Versuchen mit künstlichen Verdauungssäften zu der Annahme gekommen, dass die Zersetzung von Salol im ganzen Verdauungskanal stattfindet, wenn sie auch im Magen langsamer vor sich geht. Ferner hatte Baas [2]) das Verhalten von Salol im Organismus untersucht und aus seinen Versuchen geschlossen, dass etwa 69% des Eingenommenen im Organismus der Spaltung unterliegen. Von den erwähnten Forschern hatte nur Baas den Vorgang der Resorption, die Spaltung des Salols, quantitativ zu verfolgen versucht, hatte dabei aber eine indirecte Methode gewählt, indem er die Spaltung des Salols im Organismus an der Ausscheidung der Aetherschwefelsäuren im Harn messen wollte: eine Methode deren Richtigkeit er nicht geprüft hatte. Dass dieses Verfahren einer Begründung bedürfte, folgte deutlich genug aus den Untersuchungen früherer Forscher über das Schicksal des Phenols. Tauber [3]) und Fr. Schaffer [4]), sowie später Auerbach [5]) haben übereinstimmend gefunden, dass ein grosser Teil des Phenols im Organismus oxydirt wird. Tauber giebt sogar an, dass bei Verfütterung kleinerer Dosen eine vollständige Oxydation des Phenols im Organimus stattfindet. Es ist wahr, dass die Menge der nach dem Verabreichen von Phenol im Harn ausgeschiedenen Aetherschwefelsäuren, wie Schaffer beobachtet hat,

[1]) Wratsch 1888 (russich) ref. Maly's J. Bd. 18, S. 196.
[2]) Z. f. physiol. Ch. Bd. 14, S. 416.
[3]) Z. f. physiol. Ch. Bd. 2, S. 366.
[4]) J. f. pract. Ch. 18, S. 282.
[5]) Virchow's Arch. 77, S. 226.

grösser ist, als es der im Harn gefundenen Phenolmenge entsprechen würde; diesen Ueberschuss von Schwefelsäure ist aber mit Hydrochinon und Brenzkatechin gepaart, welche als zweiwertige Phenole Schwefelsäure im ganz anderem Verhältnisse binden, als das einwertige Phenol. Est ist also ein ganz willkürliches Vorgehen, aus der Gesammtmenge der aus dem Stoffwechsel des Phenols resultirenden Aetherschwefelsäuren das Phenol zu berechnen.

Wir haben uns vorgenommen, an der Hand von quantitativ-analytischen Methoden das Schicksaal des Salols, d. h. den Verlauf der Resorption in seiner ganzen Ausdehnung, zu untersuchen. Dies versprach um so mehr interessante Resultate zu geben, als die früheren Forscher die auffallende Erscheinung unbeachtet liessen, dass das Salol, welches etwa 44% Phenol abspalten lässt, eine harmlose Verbindung ist, so dass in Form dieser Verbindung mehrere Gramm Phenol ohne merklich schädliche Wirkung einverleibt werden können.

Um das Verhalten des Salols klarer hervortreten zu lassen, haben wir an die Versuche mit Salol einige ähnlich ausgeführte Versuche mit Salicylsäure angeschlossen. Der Versuch mit Distearylsalicylglycerid schliesst sich eng an die von St. Bondzynski [1]) mit Trisalicylglycerid sowie mit Salicylsäurediehlorhydrinester ausgeführten Untersuchungen. Der Fortgang der Resorption resp. der Spaltung einer Salicylsäureverbindung liess sich derart verfolgen, dass die Zeit nach der Einnahme der letzteren in mehrere Abschnitte geteilt

[1]) Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. Bd. 38, S. 88.

und in jeder von den während der einzelnen Zeitperioden gesammelten Harnportionen eine Bestimmung der Salicylsäure resp. eine Salicylsäure- und Phenolbestimmung ausgeführt wurde. Bei den Versuchen mit Salol haben wir nämlich unsere Aufmerksamkeit den beiden Spaltungsproducten zugewendet. Zuerst aber mussten analytische Methoden ausgearbeitet werden. Eine Methode der Salicylsäurebestimmung im Harn wurde von Bondzynski[1]) vorgeschlagen und durch methodische Versuche begründet. Dieselbe knüpft an das von Mosso zuerst angewandte Prinzip der Fällung der Salicylsäure mit basischem Bleiacetat an. Da die Fällung mit basischem Bleiacetat die Methode complicirt macht, da überdies ausser Salicylsäure noch manche andere, von uns nicht näher untersuchte Verbindungen, welche in die Aetherextracte übergehen, mit Bleiessig mit gefällt werden, so haben wir uns nach einem anderen Verfahren umgesehen. Ein solches ergab sich aus unserer Beobachtung, dass eine alkoholische Lösung von Salicylsäure mit einer wässrigen Lösung von Barythydrat einen Niederschlag von basischem Bariumsalz giebt, und dass die Salicylsäure in dieser Form vollständig ausgefällt werden kann, dass ferner weder Benzoësäure noch flüchtige Fettsäuren aus alkoholischer Lösung beim Zusatz von Barythydrat ausfallen. Sonst sind wir bei unserer Salicylsäurebestimmung wie Bondzynski vorgegangen, nur mit der Abänderung seines Verfahrens, dass wir die Zerlegung der Salicylursäure im Harn direkt und nicht in dem aus dem Aetherextrakt gewonnenem Rückstand vorgenommen haben. In dieser Weise konnten wir eine Extraktion mit Aether ersparen.

[1]) L. c.

Die Bestimmung der Salicylsäure im Harn wurde also folgendermassen ausgeführt. Der Harn wurde mit concentrirter Salzsäure angesäuert (1 Vol. conc. Salzsäure zu 10 Vol. Harn) und 6 Stunden lang in einen Kolben am Rückflusskühler gekocht. Die Lösung wurde nach dem Erkalten mit Natronlauge bis zur alkalischen Reaktion versetzt, auf einem Wasserbade bis zur Trockene eingedampft und der erhaltene Rückstand im Soxhlet'schen Apparate mit Alkohol ausgezogen. Der Alkoholauszug wurde unter Zusatz von Wasser bis zum vollständigen Verjagen des Alkohols erhitzt. Die wässrige, alkoholfreie Lösung wurde mit Salzsäure angesäuert und im Schwarz'schen Apparat mit Aether extrahirt. Der Aether wurde aus dem Aetherextrakt verdunstet, der Rückstand in Alkohol gelöst und mit einer concentrirten wässrigen Barytlösung gefällt. Der Niederschlag enthielt neben überschüssigen Bariumhydrat, welches aus der wässrigen Lösung durch Alkohol ausgefällt wurde, das basische Bariumsalicylat. Der Niederschlag wurde abgesaugt, mit 85% barythaltigem Alkohol, dann mit absolutem Alkohol und darauf mit Aether ausgewaschen, in Wasser unter Zusatz von Salzsäure gelöst und im Extraktionsapparate ausgezogen. Die aus diesem Aetherextrakte nach dem Verdunsten gewonnene Salicylsäure wurde bei 50°-55° C bis zum constanten Gewicht getrocknet und gewogen.

Bei Gegenwart von Phenol liess sich die Salicylsäure weder nach diesem Verfahren, noch nach demjenigen von Bondzynski bestimmen. Da Salicylsäure und Phenol gegen die meisten Fällungsmittel sich ähnlich verhalten, so war an eine Trennung dieser Körper durch Fällung nicht zu denken. Die Versuche

ergaben aber bald, dass diese Trennung auf andere Weise sich leicht erreichen lässt. Es lag nahe, zu versuchen, die Salicylsäure an eine Base zu binden und das ungebundene Phenol durch Abdestilliren zu trennen. In der That konnten wir durch Zusatz von Baryt zu einer Lösung, welche Salicylsäure und Phenol enthielt, und Behandlung mit Kohlensäure eine Lösung von salicylsaurem Barium und Phenol erhalten. Das Phenol liess sich aus dieser Lösung durch Abdestilliren vollständig entfernen. Auf diese Beobachtung haben wir die Bestimmung der beiden Verbindungen nebeneinander gegründet. Der Harn wurde zu diesem Zwecke mit Salzsäure angesäuert (auf 10 Vol. Harn 1 Vol conc. Salzsäure) und unter Zusatz von Wasser destillirt. In das Destillat (a) ging die ganze Phenolmenge über, sowie ein Teil der Salicylsäure. Der grössere Teil der Salicylsäure blieb im Destillationsrückstand (a) zurück. Durch dieses Destillat wurde nun zur Entfernung der Kohlensäure kurze Zeit ein Luftstrom hindurchgeleitet, dann wurde die Flüssigkeit mit überschüssiger Barytlösung versetzt, Kohlensäure durchgeleitet, das kohlensaure Barium abfiltrirt und das Filtrat wiederum einer Destillation unterworfen. Jetzt destillirte mit Wasserdämpfer nur das Phenol. Der Rückstand (b) enthielt die bei der ersten Destillation übergegangene Salicylsäure als salicylsaures Barium, das Destillat (b) war eine reine Phenollösung. Die Salicylsäure war also aus den Destillationsrückständen (a) und (b) zu gewinnen. Zu diesem Zweck wurde der erste Destillationsrückstand (a) mit Natronlauge bis zur alkalischen Reaction versetzt und bis zur Trockene eingedampft. Der erhaltene Trockenrückstand wurde

im Soxhlet'schen Extraktionsapparat mit Alkohol ausgezogen, der Alkoholauszug bis zum Verjagen des Alkohols auf dem Wasserbade erhitzt, in Wasser aufgenommen, mit dem das salicylsaure Barium enthaltenden Destillationsrückstand (b) vereinigt, die resultirende wässrige Lösung mit Salzsäure angesäuert und im Schwarz'schen Extractionsapparate der Extraction mit Aether unterworfen. Der Aetherextract wurde nach dem Verdunsten des Aethers in Alkohol gelöst und mit einer wässrigen Lösung von Barythydrat gefällt. Nach dem Auswaschen des Niederschlages mit Alkohol und Aether, Zerlegen mit Salzsäure, Extraction der Lösung mit Aether und Abdunsten des Aetherextractes wurde die Salicylsäure in einigermassen reinem [1]) Zustande erhalten; nach dem Trocknen bei 50°C wurde dieselbe gewogen.

Im Destillat (b) liess sich das Phenol bestimmen. Da dieses Destillat ein grosses Volumen besass, so wurde es unter starkem Zusatz von Natronlauge concentrirt, dann mit Salzsäure angesäuert und mit Bromwasser gefällt. Die durch den Bromüberschuss gefärbte Flüssigkeit wurde einige Zeit stehen gelassen, dann das freie Brom mit einer verdünnten Lösung von Natriumbisulfit zum Verschwinden gebracht und, um das

---

[1]) Eine Verunreinigung der erhaltenen Salicylsäure mit fremden unbekannten Substanzen war, obgleich geringer als bei der Fällung mit Bleiessig, auch bei dieser Methode nicht zu vermeiden. Es wurde daher bestimmt, wie viel von dieser Substanz aus der 24-stündigen Menge eines normalen Harns nach dem beschriebenen Verfahren erhalten wird. Es ergab sich im Mittel 0,11 g. Diese Zahl wurde bei unseren Bestimmungen in Betracht gezogen und von des Resultaten subtrahirt.

etwa neben Tribromphenol gebildete Tribromphenolbromid, $C_6H_2Br_3OBr$, in Tribromphenol zu verwandeln, der Niederschlag mit einem geringen Ueberschuss von Natriumbisulfitlösung geschüttelt. Der Niederschlag wurde darauf auf ein tarirtes Filter gebracht, im Vakuumexsiccator bis zu constantem Gewicht getrocknet und gewogen. Die Resultate der Versuche, welche diese Methoden der Bestimmung der Salicylsäure, sowie der Salicylsäure und des Phenols nebeneinander begründen sollen, lauten wie folgt:

Bestimmung der Salicylsäure in einer alkoholischen Lösung.

	gelöst	gefunden
Salicylsäure	0,8180	0,8113

Bestimmung der Salicylsäure im Harn.

	gelöst in 1 Lit. Harn	gefunden
Salicylsäure	1,0165	1,0060

Trennung der Salicylsäure von Phenol und Bestimmung der beiden Körper nebeneinander.

	gelöst	gefunden	
Salicylsäure	0,9453	0,9324	in wässriger
Phenol	0,3962	0,4012	Lösung

Im Harn.

	gelöst in 1 Lit. Harn	gefunden
Salicylsäure	1,014	0,978
Phenol	0,418	0,437

Die Tierexperimente waren teilweise Selbstversuche, teils wurden sie an einem zuverlässigen Collegen ausgeführt und zwar, um einen Aufschluss über die mit dem individuellen Verhalten gegenüber diesen Substanzen zusammenhängenden Schwankungen zu gewinnen.

Versuch mit Salicylsäure.

Versuchsperson A. (Ein schwächlicher Mann von 24 Jahren hatte am 3. II., 12 Uhr Mittags, 2,2 g Salicylsäure — als salicylsaures Natrium — eingenommen).

Perioden.	Dauer der Perioden von:	bis:	Dauer der Perioden in Stunden.	Harnmenge in ccm.	Salicylsäure gefunden.
I	12 M.	3 N.	3	445	0,2841 g
II	3 N.	6 N.	3	425	0,4100
III	6 N.	9 N.	3	340	0,1772
IV	9 N.	9 N.	12	530	0,7438
V	9 V.	9 N.	12	585	0,3206
VI	9 N.	12 V.	15	660	0,0690
				Zusammen	2,0057 g

Versuch mit Salol.

Versuchsperson A hatte am 20. II. 3,5 g Salol (= 2,2 g Salicylsäure) eingenommen.

Perioden.	Dauer der Perioden von:	bis:	Dauer der Perioden in Stunden.	Harnmenge in ccm.	Salicylsäure.	Tribromphenol.	Phenol gefunden.
I	12 M.	3 N.	3	780	0,1366	0,1416	0,0402
II	3 N.	6 N.	3	490	0,1205	0,3235	0,0961
III	6 N.	9 N.	3	250	0,1490	0,2541	0,0721
IV	9 N.	9 V.	12	500	0,4443	1,1720	0,3328
V	9 V.	9 N.	12	840	0,1624	0,6617	0,1752
VI	9 N.	9 V.	12	610	0,3077	0,2632	0,0747
VII	9 V.	9 N.	12	730	0,4420	0,0410	0,0116
VIII	9 N.	9 V.	12	850	0,1765	0,0142	[1]) 0,0040
IX	9 V.	9 N.	12	720	0,0212	—	—
				Zusammen	1,9492	g	0,8040

[1]) Der Phenolgehalt der 24-stünd. Menge des normalen Harns betrug bei der Versuchsperson A nach unserer Bestimmung 0,004 g und bei der Person B — 0,0125 g.

Versuch mit Salicylsäure.

Versuchsperson B. (Ein kräftiger, gesunder Mann in den dreissiger Jahren hatte am 4. III. 2,2 g Salicylsäure in Form von Natriumsalicylat eingenommen).

Perioden.	Dauer der Perioden von	bis.	Dauer der Perioden in Stunden.	Harnmenge in ccm.	Salicylsæure gefunden.
I	12 M.	3 N.	3	350	0,2018 g
II	3 N.	6 N.	3	275	0,3406
III	6 N.	9 N.	3	300	0,1588
IV	9 N.	9 V.	12	900	0,8402
V	9 V.	9 N.	12	950	0,2109
VI	9 N.	9 V.	12	1000	0,0532
VII	9 V.	9 N.	12	950	—
				Zusammen	1,8055 g

Versuch mit Salol.

Versuchsperson B hatte am 10. III. 3,5 g Salol (= 2,2 g Salicylsäure) eingenommen.

Perioden.	Dauer der Perioden von	bis.	Dauer der Perioden in Stunden.	Harnmenge in ccm.	Salicyl-sæure.	Tribrom-phenol.	Phenol gefunden.
I	12 M.	3 N.	3	290	0,0898	1,2162	0,4864
II	3 N.	6 N.	3	360	0,3450	1,0540	0,2993
III	6 N.	9 N.	3	350	0,1736	0,3534	0,1003
IV	9 N.	9 V.	12	750	0,8981	0,4150	0,1178
V	9 V.	9 N.	12	1050	0,5755	0,1463	0,0415
VI	9 N.	9 V.	12	1180	0,0406	0,0795	0,0223
VII	9 V.	9 N.	12	1210	0,0608	0,0259	0,0083
VIII	9 N.	9 V.	12	650	—	0,0186 g	[1])0,0052
				Zusammen	2,1834		1,0781

[1]) Der Phenolgehalt der 24-stündigen Menge des normalen Harns betrug bei der Versuchsperson A nach unserer Bestimmung 0,0040 g und bei der Person B 0,0125 g.

Sowohl beim Versuch *A* wie beim Versuch *B* wurde nach Saloleinnahme auch eine Bestimmung des Salolgehaltes in den Fäces ausgeführt. Es gelangten zu dieser Untersuchung die während 6 Tagen nach der Saloleinnahme entleerten Stühle. Beim Versuch *A* haben wir uns bemüht, die Salicylsäure aus den Fäces zu gewinnen und zwar nach dem von Bondzynski[1]) für die Untersuchung der Fäces auf die in Wasser unlöslichen Salicylsäureester angewandten Verfahren. Im Versuch *B* wurde dagegen das Phenol bestimmt. Die Phenolbestimmung wurde in folgender Weise ausgeführt. Die Fäces wurden zum Zweck der Spaltung des Salols einige Zeit mit verdünnter Natronlauge am Rückflusskühler gekocht, dann mit Salzsäure stark angesäuert und der Destillation mit Wasserdampf unterworfen. Das Destillat wurde mit Baryt versetzt, der Barytüberschuss mit Kohlensäure entfernt und das Filtrat noch einmal destillirt. Dieses Destillat wurde mit Natronlauge stark alkalisch gemacht, auf dem Wasserbade concentrirt und nach dem Ansäuern mit Salzsäure zur Fällung mit Bromwasser verwendet. Aus dem gefundenen Phenolgehalte wurde der Gehalt der Fäces an Salol berechnet.[2]) Im Versuch *A* wurden 0,1113 g Salicylsäure gefunden, was 0,172 g Salol entspricht.

Bei der Versuchsperson *B* wurden 0,475 g Tribromphenol erhalten, woraus sich 0,1349 g Phenol und 0,2888 g Salicylsäure berechnen lassen.

Wir sehen aus den Resultaten der Analysen,

[1]) Arch. f. exp. Path. u. Pharm. Bd. 38, S. 88.

[2]) Der geringe Gehalt (Spuren) der normalen Fäces an Phenol wurde bei der Berechnung nicht in Betracht gezogen.

[3]) Brieger, Ber. d. D. chem. Ges. 10,1032.

dass sowohl nach der Einnahme von Salol als nach dem Einverleiben von salicylsaurem Natrium die Ausscheidung von Salicylsäure unter gewissen Schwankungen ziemlich gleichmässig vor sich geht. Eine bemerkenswerthe Steigerung der Auscheidung von Salicylsäure ist in der Periode II fast bei allen Versuchen zu verzeichnen. Die Ausscheidung der Salicylsäure in den ersten drei Stunden nach Saloleinnahme ist nur bei Versuchsperson *B* schwächer als in der folgenden 3 stündigen Periode. Dagegen findet die erwartete Verzögerung der Resorption resp. der Ausscheidung von Salicylsäure nach der Einführung in der Form von Salol in den Resultaten der beiden Versuche einen deutlichen Ausdruck. Während bei den Versuchen mit Salicylsäure in den ersten 24 Stunden nach der Einnahme der grössere Teil der Salicylsäure in den Harn überging, sodass in der VIten 12 stündigen Periode nur ein kleiner Rest ausgeschieden wurde, gelangte beim Versuch *B* ein grosser Teil, beim Versuch *A* sogar der grössere Teil gerade in dieser späteren, auf die ersten 24 Stunden folgenden Periode zur Ausscheidung. Bei der Versuchsperson *A*, wo die Resorption einen protrahierten Verlauf hatte, dauerte die Ausscheidung von Salicylsäure 57 Stunden nach der Einnahme des Salols fort. Es ist wahrscheinlich, dass die Ursache der Verzögerung in der Ausscheidung der Salicylsäure nach Saloleinnahme auf das mehr oder weniger passive Verhalten des Salols im Magen zurückzuführen ist. Denn dass nicht die Trägheit der Spaltungsvorgänge im Darm daran schuld ist, beweist der Vergleich des Verhaltens der beiden Salol-Spaltungsprodukte. Beim Versuch *B* ist fast die Hälfte des zur Ausscheidung gelangten Phenols in den ersten drei

Stunden nach der Einnahme ausgeschieden worden, und beinahe $^3/_4$ der ausgeschiedenen Phenolmenge fanden sich im Harn der ersten 6 Stunden (Periode I und II), während der Hauptteil der ausgeschiedenen Salicylsäure auf die Perioden IV und V fiel und auf einen Zeitabschnitt von 24 Stunden, die auf die ersten 9 Stunden folgten, sich ausgedehnt hatte. Beim Versuch *A* ist sowohl die Ausscheidung von Salicylsäure wie von Phenol verlangsamt, jedoch sind diese Unterschiede im Verhalten der zwei Verbindungen ebenfalls deutlich. Die Ausscheidung des Phenols ist in der Periode VII also nach 45 Stunden fast bis auf die Höhe des Phenolgehaltes des normalen Harns gesunken, während Salicylsäure noch reichlich ausgeschieden wurde und die Ausscheidung in der darauf folgenden 12 stündigen Periode noch fortgedauert hatte.

Wir glauben, dass die Ungiftigkeit des Salols teils in der Verteilung der Resorption des Phenols auf eine grössere Fläche des Verdauungsapparates und auf einen grösseren Zeitraum, teils in dem soeben besprochenen besonderen Verhalten des Phenols zu suchen ist. Es scheint eben ein unterstützendes Moment darin zu liegen, dass der Circulationsapparat sich des Phenols sehr rasch entledigt. Denn, dass das aus der Spaltung des Salols resultirende Phenol im Organismus nicht im höheren Maasse oxydirt wird, als das im freien Zustand eingeführte, beweist der Vergleich unserer mit Salol angestellten Versuche mit den Versuchen, welche andere Forscher mit Phenol ausgeführt hatten. So fand Tauber, dass 45% bis 68%, Fr. Schaffer, dass 38% des eingeführten Phenols im Tierkörper (die Versuche wurden allerdings an Hunden ausgeführt) der Oxydation unter-

liegen. Unsere Experimente ergaben, dass von 1,5 gr. des in Form von Salol eingefürten Phenols die Versuchsperson *A* 0,804 g, die Versuchsperson *B* sogar 1,078 g im Harn erscheinen liessen, dass im ersten Fall also 40% im zweiten nur 30% der eingenommen Menge im Organismus weiter oxydirt wurden.

Wenn die Spaltung des Salols bald nach der Einnahme in den obersten Partien des Verdauungsapparates stattfindet, so wird doch ein geringer Theil mit dem Darminhalt bis in die untersten Partien des Darms fortgeschoben. Macfadyen, Nencki und Sieber[1]) haben bei Gelegenheit der an einer Frau mit einer Darmfistel angestellten Untersuchungen «Ueber die chemischen Vorgänge im menschlichen Darm» beobachtet, dass nach Saloleinnahme der an die Heococcalklappe gelangende Darminhalt-Salicylsäurereaktion gab. Wir haben uns überzeugen können, dass ein allerdings kleiner Teil des Salols (5-8%) der Spaltung entgeht und mit den Fäces ausgeschieden wird.

Bei der Betrachtung der Resultate unserer Versuche verdient noch hervorgehoben zu werden, dass die von uns untersuchten Prozesse offenbar sehr stark von individuellen Verhältnissen beeinflusst werden. In der That war im Fall *A* sowohl die Ausscheidung der Salicylsäure wie des Phenols gleichsam schleppend auf eine längere Zeitdauer protrahirt. Ob weniger energische Prozesse der Spaltung oder der Resorption, oder ein weniger energischer Stoffwechsel daran schuld waren, bleibt dahingestellt. Es ist möglich, dass beide Factoren an diesem Ergebnisse beteiligt waren — die Versuchsper-

[1]) Arch. f. exp. Pathol. und Pharmakol. Bd. 28, S. 311.

son war ein zu Verdauungsstörung hinneigender 24 jähriger Mann von allgemein schwachem Körperbau.

An der Hand dieser Beobachtung scheint es uns wahrscheinlich, dass die quantitative Untersuchung des Verhaltens des Salols in verschiedenen pathologischen Fällen noch grössere Abweichungen und vielleicht klinisch verwertbare Resultate ergeben würde.

Versuch mit Distearylsalicylglycerid.

Die Beobachtung von Bondzynski[1]), dass das Trisalicylglycerid, das Trisalicylin, im Verdauungskanal fast gar nicht gespalten, sondern unverändert mit den Fäces ausgeschieden wird, forderte dazu auf festzustellen, wie sich die nur einen Salicylsäurerest enthaltenden Triglyceride im Organismus verhalten würden.

In erster Linie war hier an ein den Fetten nahe stehendes Glycerid zu denken. Es wurde daher beschlossen, das Distearylsalicylglycerid zu diesen Versuchen zu verwenden. Eine solche Verbindung war aber noch nicht bekannt — dieselbe musste erst erhalten werden. Sie liess sich durch Einwirkung von stearinsaurem Silber auf den von Fritsch[2]) erhaltenen Salicylsäuredichlorhydrinester darstellen. Den Salicylsäuredichlorhydrinester haben wir nach der Methode von Fritsch bereitet. Die erhaltenen Krystalle hatten die von Fritsch angegebenen Eigenschaften und schmolzen bei 45° C. Diese Verbindung wurde nun mit trockenem stearinsauren

[1]) Arch. für exp. Path. u. Pharm. Bd. 38, 88.

[2]) P. Fritsch Ber. d. D. chem. Ges. Bd. 24, 775. Siehe auch Chr. Göttig, ebenda Bd. 24, 508.

Silber, welches wir durch Fällung einer Lösung von stearinsaurem Alkali mit Silbernitrat erhalten hatten, unter Verreiben innig vermischt und in einer Schaale oder — was zu einer besseren Ausbeute führt — in einem zugeschmolzenen Kölbchen 5 Stunden lang auf 125° C erhitzt.

Es fand eine Umsetzung statt im Sinne der Gleichung:

$$\begin{array}{l} CH_2Cl \\ | \\ CH.O.CO.C_6H_4(OH) \\ | \\ CH_2Cl \end{array} + 2C_{18}H_{35}AgO_2 = \begin{array}{l} CH_2.O.OC_{18}H_{35} \\ | \\ CH.O.CO.C_6H_4.OH \\ | \\ CH.O.OC_{18}H_{35} \end{array} + 2AgCl$$

Die Schmelze erstarrte beim Abkühlen zu einer harten Masse. Durch Ausziehen derselben mit Aether und Abdunsten des Aethers wurde eine ölige Substanz erhalten, welche beim Erkalten fest wurde und das Aussehen des nach dem Schmelzen erstarrten Butterfettes hatte. Dieser Rückstand wurde in heissem Alkohol gelöst; die alkoholische Lösung erstarrte beim Erkalten zu einem Brei von schneeweissen Flöckchen, welche unter dem Mikroskop bei starker Vergrösserung als aus Nädelchen bestehend sich erwiesen. Nach dem Abfiltriren und Trocknen über Schwefelsäure wurde ein weisses Pulver erhalten, welches in seinen Eigenschaften, auch im Geschmack einem Fett sehr ähnlich war. Der Körper ist in Aether, Chloroform, Schwefelkohlenstoff und Petroleumäther äusserst leicht löslich, etwas schwieriger in Alkohol. Durch Umkrystallisieren aus Alkohol gereinigt, zeigte die Substanz zwar keinen scharfen Schmelzpunkt, da der Verflüssigung eine langsame Erweichung voranging, schmolz aber doch constant zwischen 46° und 49° C.

Die Verbindung lieferte beim Verseifen Salicylsäure und Stearinsäure und führte bei der Elementaranalyse zu mit der Formel des Distearylsalicylsäureglycerids übereinstimmenden Zahlen: 0,2590 g Substanz gaben 0,7091 g CO_2 und 0,2501 g H_2O.

Gefunden:	Berechnet für $C_{46}H_{80}O_7$:
C — 74,66 %	74,19
H — 11,07 %	10,75

Die Versuchsperson A hatte am 23. III., 12 Uhr Mitt., 5,5 g Distearylsalicylsäureglycerid = 1 g Salicylsäure, in Butter gelöst, eingenommen.

Die Zeit nach der Einnahme haben wir in 4 Perioden eingeteilt. Es ergab sich:

Perioden.	Dauer der Perioden von bis.	Dauer der Perioden in Stunden.	Harnmenge in ccm.	Salicylsäure darin.
I	12 M. 9 N.	9	500	0,1903
II	9 N. 9 V.	12	520	0,1935
III	9 V. 9 N.	24	1600	0,6809
IV	9 V. 9 V.	24	1670	0,0237
				Sa 1,0884

In den Fäces konnten wir nur Spuren des Distearylsalicylglycerids nachweisen. Das Distearylsalicylglycerid wurde also im Gegensatz zum Verhalten des Trisalicylglycerids im Organismus vollkommen resorbirt. Es bestätigt dies die Schlussfolgerung, welche Bondzynski aus seinen Versuchen gezogen hatte, dass die nur einen Salicylsäurerest führenden Ester der Salicylsäure im Organismus leichter resorbirt werden, als die Di- oder Trisalicylate. Ob die Resorption des Distearylsalicylglycerides unter Spaltung vor sich geht, oder ob diese Verbindung etwa mit den Fetten emulsionirt und als solche

resorbirt wird, werden weitere Versuche lehren; dass dieselbe aber im Organismus nicht aufgespeichert wird, folgt aus unseren Bestimmungen. Wir konnten die ganze Menge der in Form dieser Verbindung eingeführten Salicylsäure im Harn wiederfinden.

Wenn aber das Distearylsalicylglycerid vollkommen resorbirt wird, so vollzieht sich die Resorption allmälig und ist offenbar auf eine grosse Strecke des Darms verteilt. Eine Verzögerung in der Ausscheidung der Salicylsäure gegenüber dem Verhalten nach der Einnahme von salicylsaurem Natrium ist an den Resultaten leicht zu bemerken. Während bei der Versuchsperson A nach der Salicylsäureeinnahme ungefähr die Hälfte der ausgeschiedenen Menge schon in den ersten 9 Stunden in den Harn überging und nach 21 Stunden beinahe 80 % der ganzen Menge ausgeschieden waren, wurde bei derselben Versuchsperson nach der Einnahme von Distearylsalicylglycerid in 9 Stunden kaum 20 % und in 21 Stunden nicht mehr als 38 % der eingenommenen Menge ausgeschieden.

Heidelberg im April 1897.

Pharmacol. Institut des weil. Prof. Dr. W. v. Schroeder.

VITA.

Ich, Vinzenz Humnicki, wurde am 14. September 1873 in Busko in Polen (Gouv. Kielce) als Sohn des Gutsbesitzers Adolf Humnicki geboren. Ich gehöre der römisch-katholischen Konfession an. Meine Schulbildung erhielt ich auf dem philologischen Staatsgymnasium in Kielce, welches ich 1891 mit dem Reifezeugnis verliess. In demselben Jahre wurde ich als stud. rer. nat. an der physikalisch-mathematischen Fakultät der Universität Warschau immatrikuliert. Hier studierte ich neben anderen Naturwissenschaften vorzüglich Chemie, fertigte eine Dissertation (« Ueber einige ungesättigte Alkohole der allgemeinen Formel $C_{10}H_{18}O$ ») an und bestand 1895 das Staatsexamen, auf Grund dessen ich das Diplom eines Kandidaten der Naturwissenschaften erwarb.

Während der nächsten vier Semester war ich an der mathematisch-naturwissenschaftlichen Fakultät in Heidelberg immatrikuliert, wo ich in den Laboratorien der Herren Prof. Victor Meyer (†) und Prof. W. v. Schröder (†) an chemischen, bezw. physiologisch-chemischen Uebungen teilnahm. Im Institut des letztgenannten Herrn entstand die vorliegende Arbeit.

Im Jahre 1897 bezog ich die Universität Freiburg in der Schweiz und bestand am 28. Januar 1898 an der dortigen mathematisch-naturwissenschaftlichen Fakultät die mündliche Prüfung zur Erlangung der Doctorwürde.

Ich hörte Vorlesungen oder besuchte praktische Uebungen bei den folgenden Herren Professoren und Dozenten:

In Warschau: Amalickij, Bielajew, Fischer v. Waldheim, Lagorio, Mitrofanow, Nasonow, Nawrocki, Potylicyn, Stankiewicz, Georg Wagner, Zilow.

In Heidelberg: Auwers, Bütschli, Gattermann, Knœvenagel, Victor Meyer, Quincke, Ad. Schmidt, Schuberg.

In Freiburg i. d. Schweiz: Baumhauer, Bistrzycki, von Kowalski.

Allen meinen hochverehrten Lehrern spreche ich hiermit meinen herzlichsten Dank aus.